

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003 年 7 月 24 日 (24.07.2003)

PCT

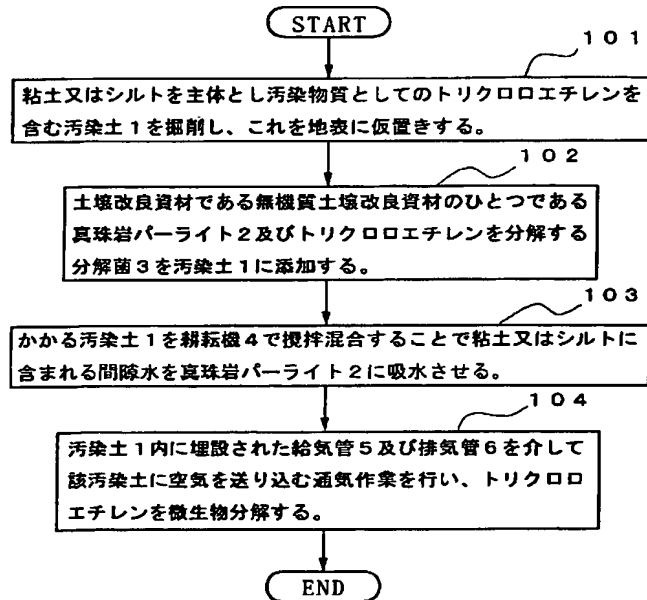
(10) 国際公開番号  
WO 03/059544 A1

- (51) 国際特許分類: B09C 1/10 KAISHA) [JP/JP]; 〒471-8571 愛知県 豊田市 トヨタ町 1 番地 Aichi (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/13065
- (22) 国際出願日: 2002 年 12 月 13 日 (13.12.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2002-8367 2002 年 1 月 17 日 (17.01.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): トヨタ自動車株式会社 (TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI)
- (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 藤井 研介 (FUJII, Kensuke) [JP/JP]; 〒204-8558 東京都 清瀬市 下清戸四丁目640 株式会社大林組技術研究所内 Tokyo (JP). 井出 一貴 (IDE, Kazuki) [JP/JP]; 〒204-8558 東京都 清瀬市 下清戸四丁目640 株式会社大林組技術研究所内 Tokyo (JP). 石川 洋二 (ISHIKAWA, Yoji) [JP/JP]; 〒204-8558 東京都 清瀬市 下清戸四丁目640 株式会社大林組技術研究所内 Tokyo (JP). 織田 泰 (ODA, Yasushi) [JP/JP]; 〒471-8571 愛知県 豊田市 トヨタ町 1 番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP). 濱崎 志紀 (HAMAZAKI, Motoki) [JP/JP]; 〒471-8571 愛知県 豊

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF PURIFYING CONTAMINATED SOIL USING MICROORGANISM

(54) 発明の名称: 微生物による汚染土の浄化方法



(57) Abstract: Contaminated soil is purified while neither affecting the environment nor requiring any post-treatments (pH adjustment, etc.) for preventing the same, even in the case where the contaminated soil has a high viscosity. A method of purifying contaminated soil with the use of a microorganism which comprises: digging contaminated soil comprising clay or silt as the main component and containing trichloroethylene as a contaminant and transiently placing the soil on the ground (Step 101); adding perlite 2, which falls within the category of inorganic soil improving materials to be used as soil improving materials, and a microorganism 3 capable of degrading trichloroethylene (Step 102); mixing the contaminated soil with the additives under agitation so that the void water contained in the clay or silt is absorbed by the perlite 2 (Step 103); and blowing air into the contaminated soil 1 to thereby microbially degrade trichloroethylene (Step 104).

- 101...DIGGING CONTAMINATED SOIL 1 COMPRISING CLAY OR SILT AS THE MAIN COMPONENT AND CONTAINING TRICHLOROETHYLENE AS THE CONTAMINANT AND TRANSIENTLY PLACING IT ON THE GROUND
- 102...ADDING PERLITE 2 (INORGANIC SOIL IMPROVING MATERIAL USED AS SOIL IMPROVING MATERIAL) AND MICROORGANISM 3 CAPABLE OF DEGRADING TRICHLOROETHYLENE TO THE CONTAMINATED SOIL 1
- 103...MIXING THE CONTAMINATED SOIL 1 UNDER AGITATION WITH CULTIVATOR 4 THEREBY ALLOWING PERLITE 2 TO ABSORB VOID WATER CONTAINED IN CLAY OR SILT
- 104...BLOWING AIR INTO CONTAMINATED SOIL VIA AIR-SUPPLY TUBE 5 AND AIR-DISCHARGE TUBE 6 THEREBY MICROBIALY DEGRADING TRICHLOROETHYLENE

[続葉有]

Best Available Copy

501,323

WO 03/059544 A1



田市 トヨタ町 1 番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP).

(74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5 森ビル 3階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

環境に影響を及ぼしたりそれを防止するための pH 調整等の後処理を行うことなく、かつ粘性の高い汚染土であっても効率的に汚染物質を浄化する。

本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法においては、まず、粘土又はシルトを主体とし汚染物質としてのトリクロロエチレンを含む汚染土を掘削し、これを地表に仮置きする (ステップ 101)。次に、土壌改良資材である無機質土壌改良資材のひとつである真珠岩パーライト 2 及びトリクロロエチレンを分解する分解菌 3 を汚染土 1 に添加する (ステップ 102)。次に、かかる汚染土を攪拌混合することで粘土又はシルトに含まれる間隙水を真珠岩パーライト 2 に吸水させる (ステップ 103)。次に、汚染土 1 内に空気を送り込む通気作業を行い、トリクロロエチレンを微生物分解する (ステップ 104)。

## 明 細 書

### 微生物による汚染土の浄化方法

#### 技術分野

本発明は、汚染土に含まれている有機塩素系化合物等の汚染物質を浄化する汚染土の浄化方法に関する。

#### 背景技術

土壌内には、トリクロロエチレンなどの有機塩素系化合物や、重油やガソリンなどの石油系炭化水素が含まれていることがあり、このような土壌をそのまま放置すると、上述した有機塩素系化合物等の汚染物質が地下水等を介して環境に拡散するおそれがある。そのため、かかる汚染土壌に対しては所定の浄化処理を行わねばならない。

一方、微生物の活性を利用して環境中の汚染物質を分解無害化する技術、すなわちバイオレメディエーションの研究が進んできており、従来から原油による海洋汚染などの浄化に適用されてきたが、最近では汚染土壌へも適用されるようになってきた。

バイオレメディエーションを用いて汚染土壌中の汚染物質を浄化するにあたっては、まず、汚染土壌を掘削して掘削汚染土を仮用地に移動し、次いで、仮用地にて掘削汚染土内の汚染物質を微生物で分解する。そして、汚染物質が分解処理された後は、処理土を元の位置に埋め戻すといった手順が一般的である。

#### 発明の開示

しかしながら、汚染土にシルトや粘土などの細粒分が多く含まれていると、土壌の空隙が少ないことに加えて間隙水が多いため、気相の割合が少なく、わずかに存在する空隙も連続性を持たないため、汚染土の通気性はきわめて悪い。

そのため、いくら強制的に通気を行っても、好気性分解菌の活性を上げることができず、該汚染土内の汚染物質を分解するのに長時間を要したり、場合によっ

ては微生物分解自体が実質的に不可能になるという問題を生じていた。

また、汚染土に生石灰を混合攪拌することで、汚染土内に含まれている水分と生石灰との化学反応に伴う水和熱を発生させ、かかる水和熱を利用して汚染物質を気化处理する方法も検討開発されている(特開平7-275837号公報参照)が、かかる方法では、汚染土が生石灰により強アルカリ性となり、埋め戻した後でアルカリ成分が地下水等に拡散したり生態系に悪影響を及ぼすといった事態が懸念される。

本発明は、上述した事情を考慮してなされたもので、環境に影響を及ぼしたりそれを防止するためのpH調整等の後処理を行うことなく、かつ粘性の高い汚染土であっても効率的に汚染物質を浄化することが可能な微生物による汚染土の浄化方法を提供することを目的とする。

#### 【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するため、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法は請求の範囲1に記載したように、粘土又はシルトを含む汚染土に吸水性を有しかつ吸水後に非膨潤性及び非粘性を維持可能な土壤改良資材を添加し攪拌混合することで該土壤改良資材に前記粘土又はシルトに含まれる間隙水を吸水させる一方、前記汚染土に含まれる汚染物質を分解する分解菌を前記汚染土に添加して又は前記汚染土内で生息している分解菌を利用して前記汚染物質を微生物分解するものである。

また、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法は、前記分解菌を前記汚染土に添加する際、前記土壤改良資材に非担持の状態で行うものである。

また、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法は、前記汚染物質を微生物分解する際、前記汚染土に通気を行うものである。

また、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法は、前記土壤改良資材を無機質土壤改良資材とするものである。

また、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法は、前記無機質土壤改良資材を真珠岩パーライトとするものである。

本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法においては、まず、粘土又はシルトを含む汚染土に土壤改良資材を添加し、次いで、これを攪拌混合することで該

土壤改良資材に前記粘土又はシルトに含まれる間隙水を吸水させる。

粘土又はシルトを含む汚染土、特に粘土又はシルトを主体とし又はこれらのみからなる汚染土は、空隙が少なくしかもその空隙に間隙水が含まれていることが多いため、一般的には含水比が高いが、かかる粘土やシルトといった細粒土の含水比をスラリー状のものから次第に低下させていくと、それに伴って土の変形に対する強さ（コンシステンシー）が変化し、液体、塑性体、半固体、固体としての性状に順次変化していく。すなわち、細粒土は、液性限界にて液性から塑性を示す状態に変化し、塑性限界にて塑性から半固体を示す状態に変化する。塑性限界以下の含水比になると、土は高いせん断強度を示すが非塑性的となる。なお、塑性とは、土に作用する外力が除かれても該土に変形が残る特性をいう。

そのため、吸水性を有しかつ吸水後に非膨潤性及び非粘性を維持可能な土壤改良資材を粘土又はシルトを含む汚染土に添加しこれを攪拌混合することで該土壤改良資材に粘土又はシルトに含まれる間隙水を吸水させると、汚染土全体の含水比は変化しないものの、粘土又はシルトに含まれていた間隙水が土壤改良資材に移動するため、汚染土中の粘土又はシルト自体の含水比は低下してそれらが塑性体から非塑性的な半固体の性状へと変化するとともに、かかる状況下で攪拌混合されることにより、粘土又はシルトの土塊はバラバラに解膠され、それまでの小さな団粒構造からより大きな団粒構造へと構造が変化するとともに、それに伴ってより大きな空隙が形成されるようになり、上述した間隙水が吸水されることによる空隙確保と相まって、粘土又はシルト内の気相率は大幅に向上する。

一方、前記汚染土に含まれる汚染物質を分解する分解菌を前記汚染土に添加して、又は前記汚染土内で生息している分解菌を利用して前記汚染物質を微生物分解する。

このようにすると、粘土又はシルト内の気相率が向上しているため、汚染土内では好気性環境が形成されることとなり、分解菌は、その活性を高めて、あるいは予め蓄積されていた分解酵素によって汚染土に含まれていた汚染物質は速やかに分解される。なお、汚染土に分解菌を添加する場合には、該分解菌を汚染土内に均一に分散させるとともに、汚染物質との接触性を高めるべく、分解菌添加後も攪拌混合を行うのが望ましい。

土壌改良資材と分解菌とを汚染土に添加するタイミングは任意であり、同時に添加してもよいし、いずれかを先行添加するようにしてもよく、土壌改良資材を添加して攪拌混合することでまずは好気性環境を形成し、しかる後、分解菌を添加してさらに攪拌混合することが考えられる。

但し、気相率は、攪拌混合開始から高くなり始めるものの、含水比等の条件によっては、ある時点でピークとなり、その後は再び低下してしまうことが実験で確認された。そのため、状況によっては、土壌改良資材と分解菌とを同時に汚染土に添加し、しかる後、該汚染土を攪拌混合して気相率が最大値になった時点で攪拌混合を終了するのが望ましい。

土壌改良資材は、上述したように吸水性を有しかつ吸水後に非膨潤性及び非粘性を維持可能なものであればどのような資材でもよいが、例えば、真珠岩パーライト、松脂岩パーライト、硬質流紋岩発泡物などのパーライト系資材、珪藻土焼成粒、粘土鉱物焼成物、木炭・再生木質炭などのセラミック系資材、バーミキュライト、ロックウールなどの岩石焼成系資材などが考えられる。

なお、非膨潤性を要件としたのは、吸水によって確保された空隙が土壌改良資材の膨潤による体積増加で相殺されてしまうからであり、膨潤による体積増加が吸水により確保される空隙よりも小さい資材を選択する必要がある。このような非膨潤性の要件を満たさないものとして具体的にはベントナイトが該当する。

また、吸水後に非粘性を要件としたのは、吸水によって土壌改良資材自体が粘性を持つようになり、それによって汚染土全体が塑性体としての性状を示す懸念があるからであり、土壌改良資材自体が粘性を持つことによる塑性限界の低下が、吸水により汚染土が塑性性状から非塑性的な半固体の性状へ変化することを妨げない資材を選択する必要がある。このような非粘性の要件を満たさないものとして具体的にはポリマーが該当する。

なお、本発明に係る土壌改良資材は、上述したように出願時点で市販ないしは公知のものであるが、それらは土壌の保水性を改良することを目的としたものであってそのほとんどが保水性に乏しい砂質土を対象としており、本発明とは、目的や用途を全く異にするものである。

対象となる汚染物質としては、好気性環境下で微生物分解可能なものを全て含

むものとし、分解菌については、かかる汚染物質に応じて最適なものを選択すればよい。

例えば、汚染物質が自然界に存在する原油等であれば、土中に生息する頻度の高い微生物、例えばシュードモナス属の菌体をそのまま利用することができる。なお、汚染物質を分解できる微生物の菌体数が汚染土内にあまり存在しない場合には、他の自然環境で生息している微生物から対象となる汚染物質を分解できる微生物をスクリーニングにより単離し、育種するようにしてもよい。

一方、汚染物質がトリクロロエチレンなどの人為的に合成された有機溶剤であって、これを唯一の炭素源として直接分解できる微生物の入手が困難である場合には、共代謝すなわち別の物質を分解する際に付加的に分解を行わせる作用を利用すればよい。例えば、通気の際、空気とともにメタンを給気して土中に存在する若しくは土中に別途供給されたメタン資化性細菌を活性化させ、該細菌が有する酸化酵素で上述の有機溶剤を分解する方法や、フェノール、トルエンなどの芳香族化合物を別途、汚染土に添加し、該汚染土中に存在する若しくは土中に別途供給された芳香族資化性細菌（シュードモナス属細菌の中に多数存在する）に芳香族化合物を分解させ、その際の共代謝によって有機溶剤を分解する等の方法が考えられる。なお、本明細書では、上述のメタンや芳香族化合物を共代謝物質と呼ぶことにする。

その他、上述した内容と一部重複するが、トリクロロエチレンを微生物分解可能な分解菌としては、メタン資化性菌であるメチロシナス トリコスポリウム (*Methylosinus tricosporium*) O B 3 (特表平 4-5 0 1 6 6 7、特開平 5-2 1 2 3 7 1) やメチロシナス トリコスポリウム (*Methylosinus tricosporium*) T U K U B A (特開平 2-9 2 2 7 4、特開平 3-2 9 2 9 7 0)、シュードモナス属であるシュードモナス プチダ (*Pseudomonas putida*) F 1 (特開昭 6 4-3 4 4 9 9)、シュードモナス プチダ (*Pseudomonas putida*) B H (藤田ら；ケミカルエンジニアリング, 3 9, 6, p 4 9 4-4 9 8, 1 9 9 4)、シュードモナス プチダ (*Pseudomonas putida*) U C-R 5, U C-P 2 (特開昭 6 2-8 4 7 8 0)、シュードモナス プチダ (*Pseudomonas putida*) K W I-9 (特開平 6-7 0 7 5 3)、シュードモナス メンドシナ (*Pseudomonas mendocina*) K R 1

(特開平 2-503866, 5-502593)、シュードモナス セパシア (Pseudomonas cepacia) G 4 (特開平 4-502277)、シュードモナス セパシア (Pseudomonas cepacia) K K 0 1 (特開平 6-296711)、アルカリジーンナス ユートロフス (Alcaligenes eutropus) J M P 1 3 4 (A.R.Harker Appl. Environ. Microbiol., 56, 4, 1179-1181, 1990)、アルカリジーンナス ユートロフス (Alcaligenes eutropus) K S 0 1 (特開平 7-123976)、アンモニア酸化細菌であるニトロソモナス ユーロパエア (Nitrosomonas europaea) (D. Arciero et al. Biochem. Biophys. Res. Commun., 159, 2, 640-643, 1989)、コリネバクテリウム属細菌 (Corynebacterium) J 1 (特開平 8-66182) 等が知られている。

なお、MO 7 株 (国際出願番号 P C T / J P 9 7 / 0 2 8 7 2、国際公開番号 W O 9 8 / 0 7 8 3 1、F E R M B P-5 6 2 4) を用いれば、上述した細菌よりも高い効率でかつ直接的にトリクロロエチレンを分解することができる。

ここで、汚染物質を分解する分解菌については、上述したように別途スクリーニングされたものを汚染土に添加するようにしてもよいし、汚染土内で元々生息している土中菌を分解菌として利用するようにしてもよい。

また、汚染土に分解菌を添加する場合、土壤改良資材に担持された状態で該土壤改良資材とともに汚染土に添加するようにしてもよいが、これに代えて、該分解菌が土壤改良資材に非担持の状態、すなわち、土壤改良資材を汚染土に添加するプロセスとは異なるプロセスとして分解菌を汚染土に個別に添加するのが望ましい。

かかる構成によれば、分解菌が土壤改良資材に担持された状態で該分解菌を汚染土に添加した場合とは異なり、土壤改良資材に吸水された水によって分解菌が非好気性環境下におかれるのを未然に防止することが可能となる。

また、前記汚染物質を微生物分解する際、前記汚染土に通気を行うかどうかは任意であるが、通気を行った場合には、上述した好気性環境がさらに確実に形成されることとなり、汚染物質の分解効率をさらに高めることが可能となる。

また、前記土壤改良資材を無機質土壤改良資材としたならば、土壤改良資材が経年的に分解されて地盤沈下等の原因となるのを防止することが可能となる。



さらに、前記無機質土壤改良資材を真珠岩パーライトとしたならば、好気性環境を確実に形成することができる。

#### 図面の簡単な説明

図 1 は、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法の実施手順を示したフローチャート。

図 2 は、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法の各実施ステップにおける作業図。

図 3 は、変形例に係る微生物による汚染土の浄化方法の実施手順を示したフローチャート。

図 4 は、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法を実証したグラフ。

図 5 は、同じく本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法を実証したグラフ。

#### 符号の説明

- |   |                            |
|---|----------------------------|
| 1 | 汚染土                        |
| 2 | 真珠岩パーライト（土壤改良資材、無機質土壤改良資材） |
| 3 | 分解菌                        |

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法の実施の形態について、添付図面を参照して説明する。なお、従来技術と実質的に同一の部品等については同一の符号を付してその説明を省略する。

図 1 は、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法の実施手順を示したフローチャート、図 2 は各ステップにおける作業図である。これらの図に示すように、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法においては、まず、粘土又はシルトを主体とし汚染物質としてのトリクロロエチレンを含む汚染土 1 を図 2 (a) に示すように掘削し、これを地表に仮置きする（ステップ 101）。

次に、土壤改良資材である無機質土壤改良資材のひとつである真珠岩パーライト 2 及びトリクロロエチレンを分解する分解菌 3 を図 2 (b) に示すように汚染土

1に添加する（ステップ102）。

分解菌3を汚染土1に添加するにあたっては、分解菌3を真珠岩パーライト2に非担持の状態、すなわち、真珠岩パーライト2を汚染土1に添加するプロセスとは異なるプロセスとして汚染土1に個別に添加する。

次に、かかる汚染土を同図(c)に示すように耕耘機4で攪拌混合することで粘土又はシルトに含まれる間隙水を真珠岩パーライト2に吸水させる（ステップ103）。

このようにすると、汚染土1全体の含水比は変化しないものの、粘土又はシルトに含まれていた間隙水が土壌改良資材である真珠岩パーライト2に移動するため、汚染土1中の粘土又はシルト自体の含水比は低下してそれらが塑性体から非塑性的な半固体の性状へと変化するとともに、かかる状況下で攪拌混合されることにより、粘土又はシルトの土塊はバラバラに解膠され、それまでの小さな団粒構造からより大きな団粒構造へと構造が変化するとともに、それに伴ってより大きな間隙が形成されるようになり、上述した間隙水が吸水されることによる空隙確保と相まって、粘土又はシルト内の気相率が大幅に向上するとともに、分解菌3が汚染土1内に均一に分散され、トリクロロエチレンとの接触性が高まる。

分解菌3は、例えばMO7株（国際出願番号PCT/J P 97/02872、国際公開番号WO98/07831、FERM BP—5624）を菌体懸濁液タンクに収容しておき、これを汚染土1に添加すればよい。なお、分解菌3の活性が高まるよう、必要に応じて栄養塩や共代謝物質等を併せて供給するようにしてもよい。

次に、図2(d)に示すように汚染土1内に埋設された給気管5及び排気管6を介して該汚染土1に空気を送り込む通気作業を行い、トリクロロエチレンを微生物分解する（ステップ104）。このような通気中（養生中）においては、トリクロロエチレンと分解菌との接触性を確保するため、必要に応じて随時、汚染土1を耕耘して攪拌混合するようにしてもよい。

このように汚染土1内に空気を送り込むと、上述したように粘土又はシルト内の気相率が向上しているため、汚染土1内では通気がスムーズに行われて好気性環境がより確実に形成されることとなり、分解菌が出す分解酵素によって汚染土

1に含まれているトリクロロエチレンを速やかに分解する。

通気を行う、言い換えれば空気を送り込むにあたっては、必要に応じてトリクロロエチレン分解菌の生育に最適な条件を考慮して酸素濃度や気体温度等を適宜設定するとともに、必要に応じてメタンなどの共代謝物質を併せて供給する。

なお、トリクロロエチレンは揮発性物質であるため、分解菌による分解作用を受けることなくそのまま排気されることもあり得るが、このような場合には、汚染土1内に埋設された排気管6を捕集装置（図示せず）に接続しておき、該捕集装置に内蔵した活性炭で排気された空気内のトリクロロエチレンを吸着捕集するようにすればよい。

また、通気中（養生中）におけるトリクロロエチレンの揮発を防止すべく、仮置きされた汚染土1の上からビニールシート等の揮発防止シートをかけるようにしてもよい。

微生物分解によるトリクロロエチレンの分解除去が終了したならば、処理された土を適宜、元の位置に埋め戻すか、あるいは盛土材、埋立材といった材料に適宜転用することができる。

以上説明したように、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、土壌改良資材である真珠岩パーライト2とトリクロロエチレンを分解する分解菌3を粘土又はシルトを含む汚染土1に添加して攪拌混合することで該真珠岩パーライトに粘土又はシルトに含まれる間隙水を吸水させるようにしたので、汚染土1全体の含水比は変化しないものの、粘土又はシルトに含まれていた間隙水が真珠岩パーライト2に移動するため、粘土又はシルト自体の含水比は低下してそれらが塑性体から非塑性的な半固体の性状へと変化するとともに、かかる状況下で攪拌混合されることにより、粘土又はシルトの土塊がバラバラに解膠され、それまでの小さな団粒構造からより大きな団粒構造へと構造が変化するとともに、それに伴ってより大きな間隙が形成されるようになる。

そして、上述した間隙水が吸水されることによる空隙確保と相まって、粘土又はシルト内の気相率が大幅に向上することとなり、かくして、汚染土1内では好気性環境が形成され、分解菌3が出す分解酵素によって汚染土1に含まれているトリクロロエチレンを速やかに分解することが可能となる。

また、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、分解菌 3 を真珠岩パーライト 2 に非担持の状態、すなわち、真珠岩パーライト 2 を汚染土 1 に添加するプロセスとは異なるプロセスとして汚染土 1 に個別に添加するようにしたので、分解菌 3 が真珠岩パーライト 2 に担持された状態で該分解菌を汚染土 1 に添加した場合とは異なり、真珠岩パーライト 2 に吸水された水によって分解菌 3 が非好気性環境下におかれるのを未然に防止することが可能となる。

また、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、汚染土 1 に通気を行うようにしたので、上述した好気性環境がさらに確実に形成されることとなり、汚染物質であるトリクロロエチレンの分解効率をさらに高めることが可能となる。

また、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、土壤改良資材として無機質土壤改良資材を用いたので、経年的に分解されて地盤沈下が生じる懸念がなくなる。

また、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、無機質土壤改良資材を真珠岩パーライト 2 としたので、好気性環境を確実に形成することができる。

また、本実施形態に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、トリクロロエチレンの浄化にあたり、従来のように水や生石灰を使用しないので、スラリーを処理したり pH 調整したりといった後処理が不要となり、埋め戻し等の作業に速やかに移行することができる。そのため、環境への影響を懸念することなく、土壤浄化を短工期に行うことが可能となる。

本実施形態では、汚染物質をトリクロロエチレンとしたが、対象となる汚染物質がこのようなトリクロロエチレンに限定されるものではなく、好気性環境下で微生物分解可能なものであればすべて本発明を適用することが可能である。なお、分解菌については、かかる汚染物質に応じて最適なものを選択すればよい。

また、本実施形態では、分解菌 3 を汚染土 1 に添加する際、土壤改良資材である真珠岩パーライト 2 に非担持の状態で行うようにしたが、真珠岩パーライト 2 に担持された分解菌 3 が水によって非好気性環境下におかれる懸念がないのであれば、分解菌 3 が真珠岩パーライト 2 に担持された状態で汚染土 1 への添加を行

うようにしてもかまわない。

また、本実施形態では、汚染物質であるトリクロロエチレンを微生物分解する際、汚染土 1 に通気を行うようにしたが、土壌改良資材である真珠岩パーライト 2 の上述した作用によって汚染土 1 の気相率が大幅に向上しているため、この段階ですでに所定の好気性環境が形成されている。

したがって、状況によっては汚染土 1 に対する通気作業を省略し、図 3 に示すように、汚染土 1 を自然放置した状態でトリクロロエチレンを微生物分解するようにしてもかまわない（ステップ 1 1 4）。なお、かかる変形例において、ステップ 1 1 4 に至るまでのステップ 1 0 1 ～ステップ 1 0 3 については、上述の実施形態と同様であるので、ここではその説明を省略する。

また、本実施形態では、汚染土 1 をいったん掘削してこれを仮置きするようにしたが、これに代えて、掘削された汚染土 1 を容器に入れて上述したと同様の処理を行うようにしてもよい。かかる場合には、トリクロロエチレンの揮発を未然に防止することができる。

具体例としては、コンクリート材料を混練する際に用いるものと同様のミキサーを用意して該ミキサー内に汚染土を投入し、引き続いて該ミキサー内に分解菌及び土壌改良資材を添加して攪拌混合し、これを地表に適当な厚みに敷き均した後、自然放置した状態で又は強制通気しつつ微生物分解するようにしてもよい。

一方、トリクロロエチレンが汚染土壌の地表面に偏っている場合には、該地表面に土壌改良資材及び分解菌を添加して耕耘機で攪拌混合し、しかる後、その上からビニールシート等の揮発防止シートをかけて揮発を防止しつつ必要に応じて通気作業を行って、微生物分解させるようにしてもかまわない。

また、本実施形態では、分解菌 3 を汚染土 1 に別途添加するようにしたが、汚染土 1 に生息している土中菌をかかる分解菌として利用することができるのであれば、分解菌 3 をあらたに添加する必要はない。

#### 〔実施例〕

次に、本発明の作用効果を実証すべく、実験を行ったので、以下にその概要を述べる。

まず、トリクロロエチレンを汚染物質とし、含水比 70 % の細粒土を主体とし

た汚染土を作製した。次に、作製した汚染土にトリクロロエチレン分解菌としてMO 7株を、土壌改良資材として真珠岩パーライトをそれぞれ添加し、ホバートミキサーで15秒間攪拌混合した。

図4は、攪拌混合が終了してからの経過時間（養生時間）を横軸に、トリクロロエチレン濃度を縦軸にとってトリクロロエチレンの濃度低下を調べた結果を示したグラフである。なお、本実験では、汚染土に空気を送り込む通気作業は行っていない。

同図には、分解菌や土壌改良資材を添加しない場合も併せて示してあり、同図でわかるように、分解菌も土壌改良資材も添加しない場合はトリクロロエチレン濃度はほとんど変化していない。また、分解菌だけを添加した場合もトリクロロエチレン濃度にほとんど変化は見られなかった。これは、土壌改良資材なしでは分解菌の活性を高めることができなかったことが原因と思われる。

次に、土壌改良資材だけを添加した場合には、トリクロロエチレンをある程度浄化することができた。これは、トリクロロエチレン分解菌を添加しなくても、土壌改良資材による吸水によって汚染土中の気相率が向上して通気性がよくなり、トリクロロエチレンがそれによって揮発したためと思われる。土壌改良資材及びトリクロロエチレン分解菌の両方を添加した場合、トリクロロエチレンは速やかに分解され、30時間経過後には環境基準値を下回った。

図5は、攪拌混合時間を横軸に縦軸に気相率をとったグラフであり、土壌改良資材を添加しない場合には、攪拌混合するにつれて気相率が下がっていくのに対し、添加した場合には、30%にすぎなかった気相率が60%にまで高まっているのがわかる。これは、土壌改良資材の吸水作用によって粘土又はシルトの含水比が低下しそれらが塑性体から非塑性的な半固体の性状へと変化するとともに、かかる状況下で攪拌混合されることにより、粘土又はシルトの土塊がバラバラに解膠され、それまでの小さな団粒構造からより大きな団粒構造へと構造が変化するとともに、それに伴ってより大きな間隙が形成されるようになり、上述した間隙水が吸水されることによる空隙確保と相まって、粘土又はシルト内の気相率が大幅に向上したものである。

なお、気相率は、攪拌混合開始後、10秒程度で最大値となり、その後は再び

低下することがわかった。これは、攪拌混合によって大きくなった団粒構造が再び小さな団粒構造へと変化して空隙が少なくなったためと思われる。

#### 産業上の利用の可能性

以上述べたように、本発明に係る微生物による汚染土の浄化方法によれば、土壤改良資材に粘土又はシルト内の間隙水を吸水させることにより、汚染土全体の含水比は変化しないものの、粘土又はシルト自体の含水比が低下してそれらが塑性体から非塑性的な半固体の性状へと変化するとともに、かかる状況下で攪拌混合されることにより、粘土又はシルトの土塊がバラバラに解膠され、それまでの小さな団粒構造からより大きな団粒構造へと構造が変化するとともに、それに伴ってより大きな空隙が形成されるようになる。

そして、上述した間隙水が吸水されることによる空隙確保と相まって、粘土又はシルト内の気相率が大幅に向上することとなり、かくして、汚染土内では好気性環境が形成され、分解菌が有する分解酵素によって汚染土に含まれている汚染物質を速やかに分解することが可能となる。

## 請求の範囲

1. 粘土又はシルトを含む汚染土に吸水性を有しかつ吸水後に非膨潤性及び非粘性を維持可能な土壌改良資材を添加し攪拌混合することで該土壌改良資材に前記粘土又はシルトに含まれる間隙水を吸水させる一方、前記汚染土に含まれる汚染物質を分解する分解菌を前記汚染土に添加して又は前記汚染土内で生息している分解菌を利用して前記汚染物質を微生物分解することを特徴とする微生物による汚染土の浄化方法。

2. 前記分解菌を前記汚染土に添加する際、前記土壌改良資材に非担持の状態で行う請求の範囲 1 記載の微生物による汚染土の浄化方法。

3. 前記汚染物質を微生物分解する際、前記汚染土に通気を行う請求の範囲 1 記載の微生物による汚染土の浄化方法。

4. 前記土壌改良資材を無機質土壌改良資材とする請求の範囲 1 乃至請求の範囲 3 のいずれか一記載の微生物による汚染土の浄化方法。

5. 前記無機質土壌改良資材を真珠岩パーライトとする請求の範囲 4 記載の微生物による汚染土の浄化方法。

6. 粘土又はシルトを含む汚染土に、吸水性を有しかつ吸水後に非膨潤性及び非粘性を維持可能な土壌改良資材を添加し攪拌混合する工程と、

前記汚染土に含まれる汚染物質を、前記汚染物質を分解する分解菌を前記汚染土に添加して及び/又は前記汚染土内で生息している分解菌を利用して分解する工程とを含む微生物による汚染土の浄化方法。

7. 前記汚染土に対して、前記分解菌と前記土壌改良資材とを別個に添加する請求の範囲 6 記載の微生物による汚染土の浄化方法。

8. 前記汚染物質を分解する工程では、前記汚染土に通気を行うことを特徴とする請求の範囲 6 記載の微生物による汚染土の浄化方法。

9. 前記土壌改良資材が無機質土壌改良資材を主体とする請求の範囲 6 乃至請求の範囲 8 のいずれか一記載の微生物による汚染土の浄化方法。

10. 前記無機質土壌改良資材が真珠岩パーライトである請求の範囲 9 記載の微生物による汚染土の浄化方法。



図 1

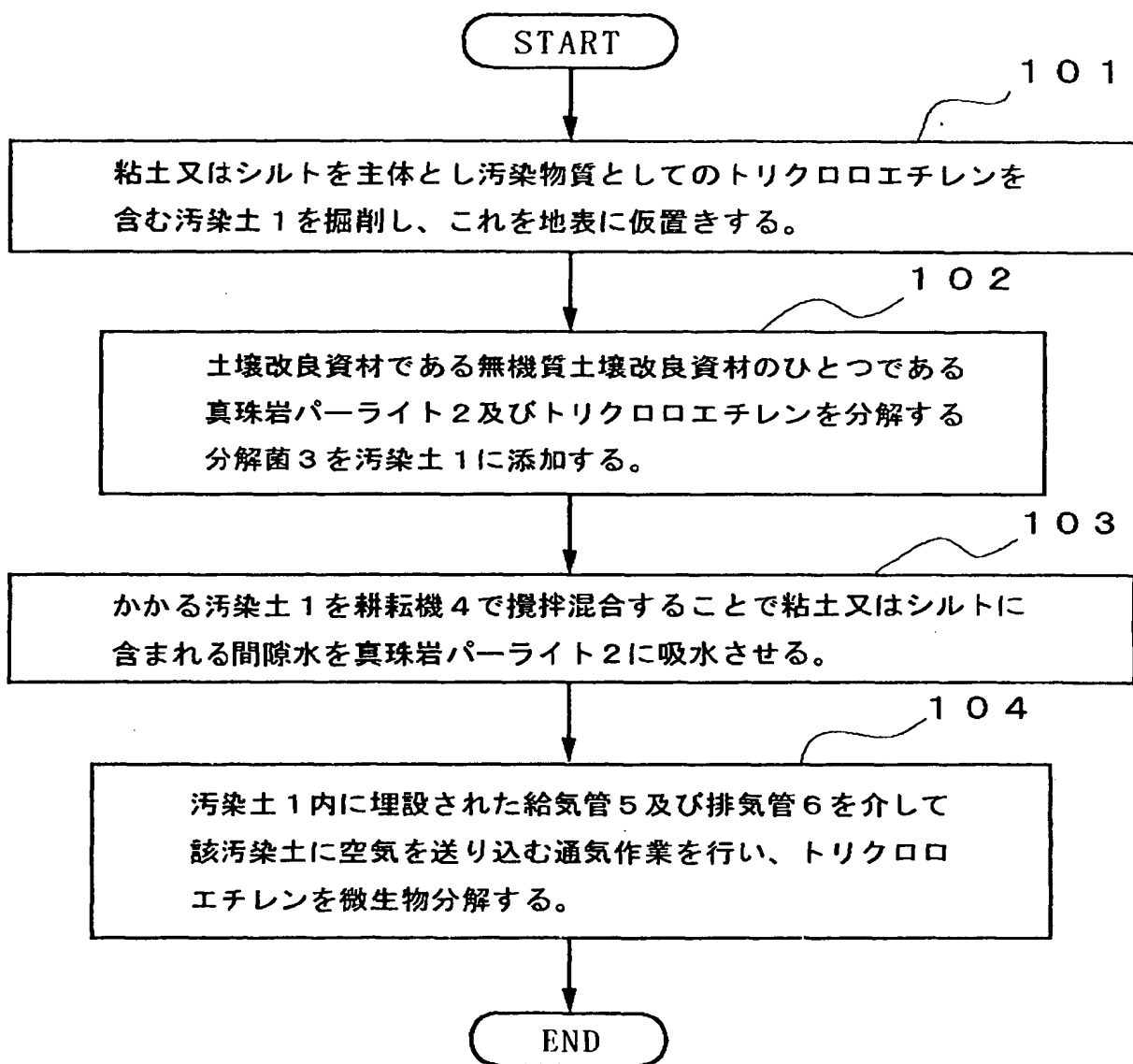
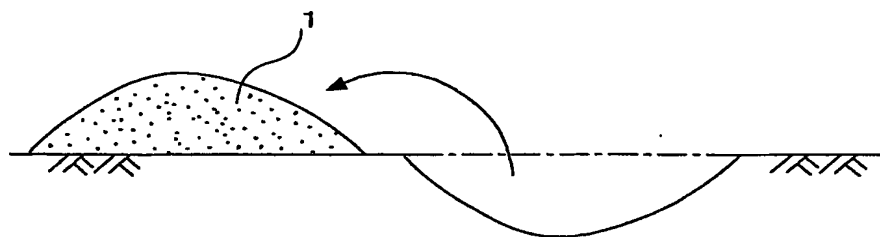
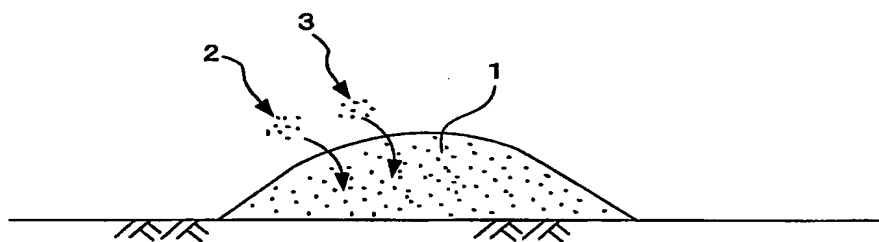


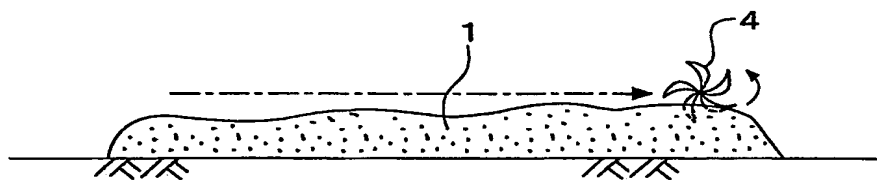
図 2



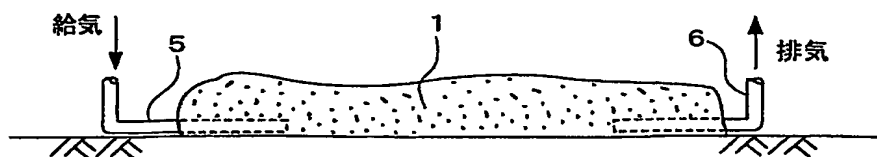
(a)



(b)



(c)



(d)

図 3

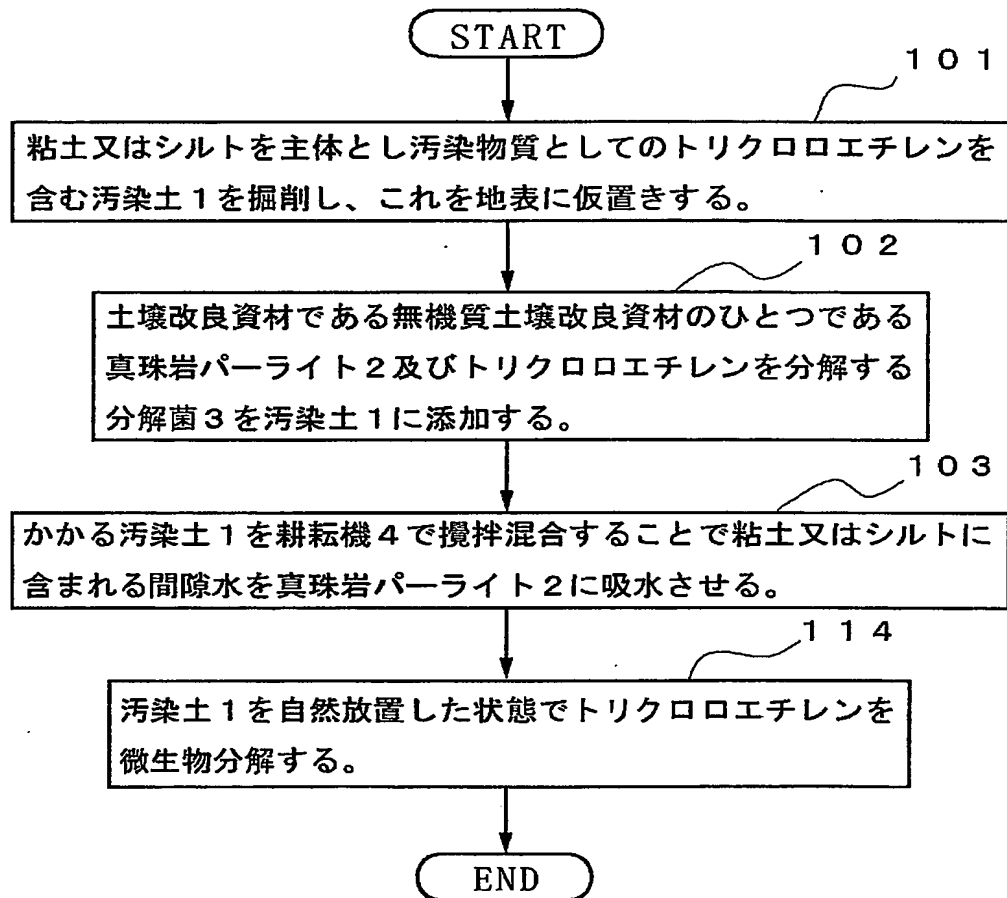


図 4

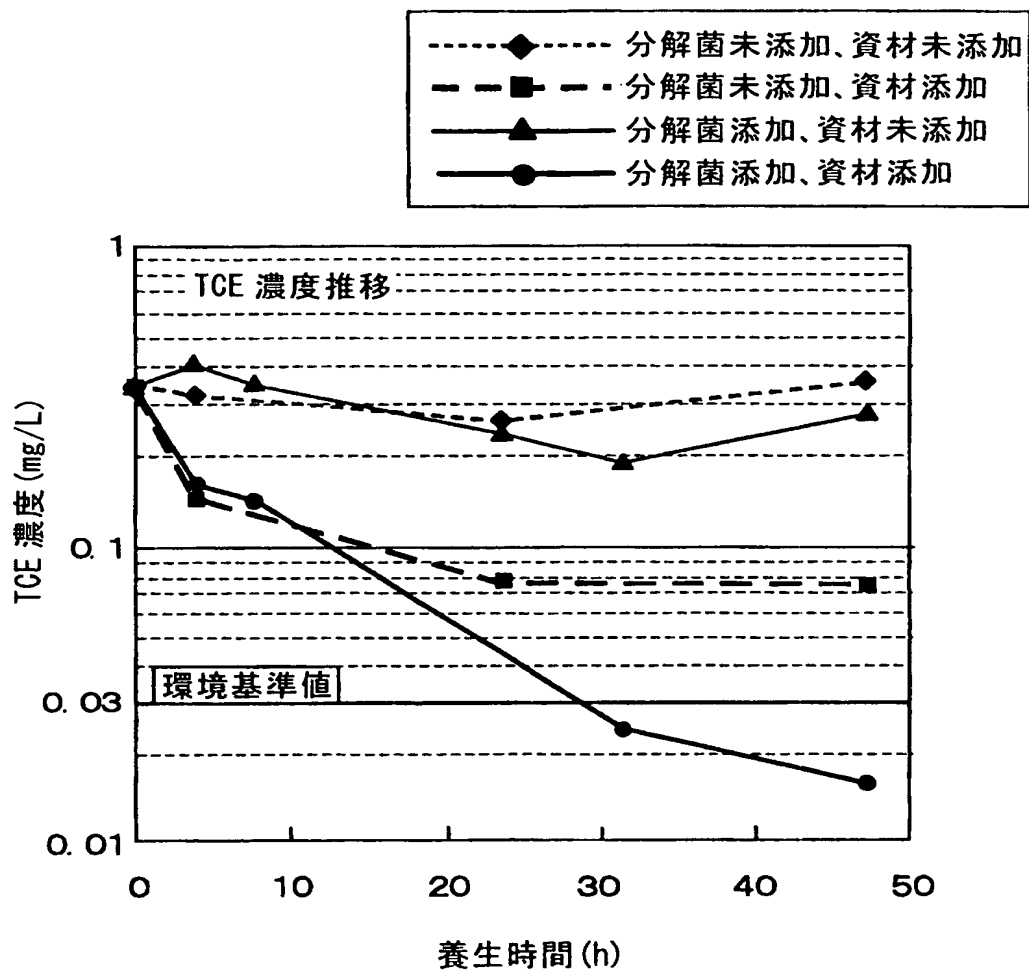
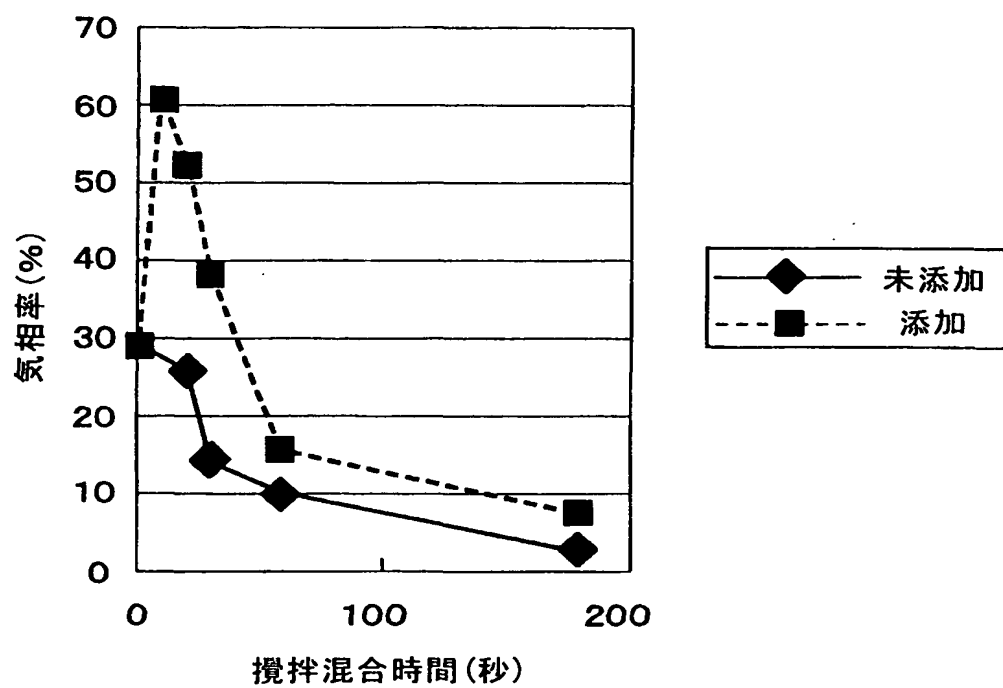


図 5



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP02/13065

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> B29C1/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> B09C1/00-10, C09K17/00-17/52

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2003  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2003 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 94/25628 A1 (GLAZE Bradley S), 10 November, 1994 (10.11.94), All references & JP 8-508198 A & EP 695369 A & US 5586731 A & US 5593888 A	1-3, 6-8 4, 5, 9, 10
Y	JP 2001-81464 A (Oji Ryokka Kabushiki Kaisha), 27 March, 2001 (27.03.01), Claims (Family: none)	4, 5, 9, 10
Y	JP 7-188659 A (Kowa Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha), 25 July, 1995 (25.07.95), Claims; example 11 (Family: none)	4, 5, 9, 10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
20 March, 2003 (20.03.03)

Date of mailing of the international search report  
08 April, 2003 (08.04.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP02/13065

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2001-232344 A (Kurita Water Industries Ltd.), 28 August, 2001 (28.08.01), Claims; Par. Nos. [0001], [0003] (Family: none)	1-10
A	JP 8-112586 A (Taisei Corp.), 07 May, 1996 (07.05.96), Par. Nos. [0004], [0005] (Family: none)	1-10

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> B09C1/10

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> B09C1/00-10、C09K17/00-17/52

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926年-1996年

日本国公開実用新案公報 1971年-2003年

日本国登録実用新案公報 1994年-2003年

日本国実用新案登録公報 1996年-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	WO 94/25628 A1 (GLAZE Bradley S) 1994. 1 1. 10, 全文献 & JP 8-508198 A&EP 6953 69 A&US 5586731 A&US 5593888 A	1-3, 6-8 4, 5, 9, 10
Y	JP 2001-81464 A (王子緑化株式会社) 2001. 03. 27, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	4, 5, 9, 10
Y	JP 7-188659 A (恒和化学工業株式会社) 1995. 07. 25, 特許請求の範囲、実施例11 (ファミリーなし)	4, 5, 9, 10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20.03.03

国際調査報告の発送日

08.04.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

増田 亮子

4D

9267

印

電話番号 03-3581-1101 内線 3421



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P 2 0 0 1 - 2 3 2 3 4 4 A (栗田工業株式会社) 2 0 0 1 . 0 8 . 2 8、特許請求の範囲、[0 0 0 1] 段落、[0 0 0 3] 段落 (ファミリーなし)	1 - 1 0
A	J P 8 - 1 1 2 5 8 6 A (大成建設株式会社) 1 9 9 6 . 0 5 . 0 7, [0 0 0 4] 段落, [0 0 0 5] 段落 (ファミリーな し)	1 - 1 0